

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛЕЧЕНИИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Н.Х. Куанг^{1,*}, аспирант, В.В. Чупин², профессор, Д.И. Прохоров¹, старший научный сотрудник, К.А. Жданова³, аспирант, В.И. Швец^{1,4,5}, академик РАН, заведующий кафедрой

¹кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия

²Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный, Московская область, 141700 Россия

³кафедра Химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия

⁴Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, 125315 Россия

⁵ООО «Технология лекарств», г. Химки, Московская область, 141400 Россия

*Автор для переписки, e-mail: anpha2004@yahoo.com

Липосомы являются одной из самых перспективных систем доставки лекарственных веществ в органы и ткани благодаря их особым свойствам – биосовместимости, мембранотропности, способности к пассивному нацеливанию и возможности включения как гидрофильных, так и гидрофобных структур. В настоящем обзоре в краткой форме приведены обобщенные данные, относящиеся к разработкам и исследованиям липосомальных средств доставки лекарственных субстанций, применяющихся в медицинских целях.

Ключевые слова: наночастица, липосома, противораковая терапия, антибактериальная терапия, генная терапия.

Введение

Современные нанотехнологии рассматриваются как совокупность методов производства и применения продуктов на молекулярном уровне. Такие системы характеризуются уникальными физическими, оптическими и электронными свойствами, которые являются привлекательными для различных областей – от материаловедения до биомедицины. Одним из наиболее активных направлений исследований в нанотехнологии является наномедицина, находящая применение в узкоспециализированных медицинских областях для профилактики, диагностики и лечения различных заболеваний. Увеличение числа подобных исследований в последние десятилетия связано, в первую очередь, с коммерциализацией наномедицины и появлением множества новых нанолекарств на фармацевтическом рынке. Доминирующим направлением в наномедицине является создание систем доставки классических лекарственных средств (ЛС), объем которых в настоящее время достигает более 75% от общего объема продаж коммерческих препаратов.

Благодаря своим размерам наноматериалы являются перспективными средствами доставки лекарственных препаратов. В частности, различные структуры могут инкапсулировать, диспергировать лекарственные препараты или конъюгировать с ними, что приводит к улучшению фармакологических свойств этих препаратов. При комбинировании лекарственных

препаратов с наноструктурами решаются проблемы их растворимости, повышается адгезия к биологическим поверхностям, обеспечивается быстрое высвобождение и улучшение биодоступности. Высокоэффективная доставка лекарств на основе наноматериалов позволяет повысить их терапевтический индекс, а это, в свою очередь, снижает стоимость и/или уменьшает побочные эффекты препаратов. Кроме того, возможность целенаправленного подбора размеров наноструктур и их поверхностной модификации повышает эффективность доставки лекарственных препаратов за счет пассивного или активного механизмов нацеливания при существенном снижении токсичности. Прикрепление к поверхности наноструктур молекул, специфичных по отношению к клеткам-мишеням (например, иммуноглобулинов, антител, использование магнитных наночастиц), позволяет обеспечивать адресную доставку и высвобождение ЛС, улучшает терапевтическую эффективность и снижает побочные эффекты.

Стратегия инкапсулирования ЛС в наноструктуры применяется к препаратам, которые не могут быть допущены к клиническим испытаниям из-за своих плохих фармакологических свойств, например, низкой растворимости, плохой проницаемости биологических барьеров. Создание новых средств доставки ЛС, как ожидается, позволит фармацевтическим компаниям переформировать уже существующие

ющие препараты на рынке, увеличить ресурс продуктов и повысить производительность за счет увеличения эффективности и безопасности, а также снизить затраты на здравоохранение.

В настоящее время существует много типов наноматериалов и различных наноструктур, которые широко изучаются и используются для

доставки ЛС (рис. 1), каждый из этих типов имеет свои преимущества и недостатки. Данная краткая обзорная статья обобщает данные, относящиеся к разработкам и исследованиям одного из самых распространенных средств доставки лекарственных препаратов – липосом, а также их использованию в медицине.

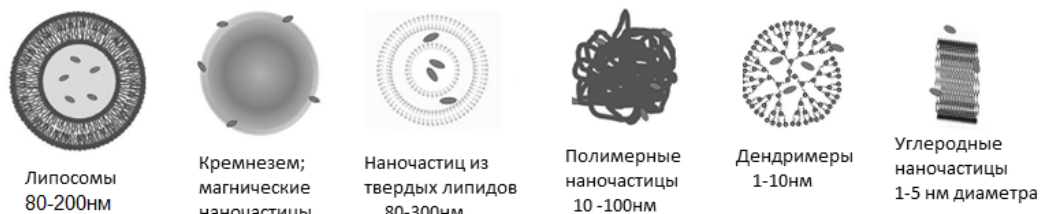


Рис. 1. Наноструктуры для доставки лекарственных препаратов.

Липосомы (рис. 1) представляют собой одну из первых исследованных наноструктур в качестве средств доставки ЛС. Они являются сферическими везикулами, состоящими из фосфолипидного бислоя и стероидов (например, холестерина), с размерами в диапазоне 80–200 нм [1]. Липосомы могут доставлять ЛС внутрь клетки, предохранять ЛС от действия ферментов и защитных систем и увеличивать концентрацию ЛС в организме больного [2]. Препараты включаются в липосомы благодаря процессу инкапсуляции во внутреннюю полость, транспортируются к терапевтической мишени с последующим высвобождением, используя различные механизмы (рис. 2).

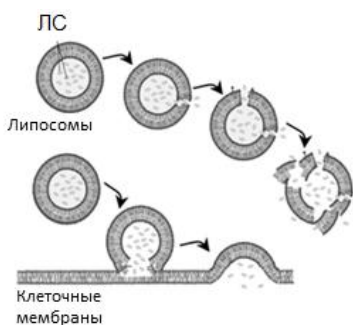


Рис. 2. Различные механизмы высвобождения ЛС из липосом.

Высвобождение ЛС из липосом зависит от их состава, pH, осмотического давления и окружающей среды. Кроме того, включение ЛС в липосомы увеличивает продолжительность действия ЛС, а также сокращает количество препарата, необходимое для оказания адекватного терапевтического эффекта. Взаимодействие липосом с клетками может быть реализовано несколькими способами: адсорбцией, сочетанием эндоцитоза и обмена липидов. На сегодняшний день многие ЛС были загружены в липосомальные структуры для различных терапевтических целей. Ниже рассмотрены некоторые характерные исследования с исполь-

зованием липосом для доставки лекарств в современных терапевтических направлениях.

Липосомы для доставки лекарств в противораковой терапии

При терапии онкологических заболеваний большинство противораковых препаратов распределяются неизбирательно по всему организму, что ведет к гибели как злокачественных, так и нормальных клеток и сопровождается появлением различных токсических эффектов. Инкапсулирование этих препаратов в липосомы приводит к увеличению времени циркуляции в кровотоке, усиленному депонированию в поврежденных тканях, защите от метаболического разложения препарата, измененному тканевому распределению препарата с его повышенным поглощением в органах и в мононуклеарных фагоцитах (печень, селезенка и костный мозг) и снижению поглощения в почках, миокарде и головном мозге. Для нацеливания в опухоли липосомы должны быть стабильными в крови и иметь доступ к мишени. Различные исследования показали, что липосомы могут накапливаться в некоторых опухолях с более высокой концентрацией, чем в нормальных тканях [3], что может быть объяснено следующим: (I) более высокая эндоцитозная активность некоторых опухолевых клеток в сочетании с расширенной локальной проницаемостью капилляров, пропускающих мелкие липосомы; (II) диффузия препаратов из липосом или их временной циркуляцией после сближения с тканями опухолей и дальнейшее проникновение в опухоль; (III) липосомы могут быть фагоцитированы моноцитами, которые впоследствии мигрируют к опухолям; (IV) пролонгированное действие липосом может улучшить цитотоксический эффект препаратов. Пассивное нацеливание продолжительно циркулирующих липосом в опухолевые ткани может быть полезным для доставки противораковых химиотерапевтических агентов к целевым опухолям.

В последнее время многие исследования были направлены на улучшение безопасности при использовании противоопухолевых препаратов. Применение препаратов в обычной форме часто приводит к побочным эффектам в отношении сердечно-сосудистой системы, а также желудочно-кишечного тракта. Использование противоопухолевых препаратов в липосомальной форме для доставки этих лекарств позволит значительно снизить нежелательные эффекты и обеспечить безопасность при использовании.

Паклитаксел (рис. 3) является важным препаратом в противораковой терапии. Он является алкалоидом, который стабилизирует микротрубочки и подавляет пролиферацию эндотелиальных клеток. Некоторые исследования показали трудности в разработке липосомальных форм паклитаксела из-за его гидрофобных свойств. Zhang и соавт. в работе [4] разработали липосомальную структуру — 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин/холестерин/кардиолипин — для доставки паклитаксела. Исследования терапевтической эффективности нанопрепарата были выполнены на мышах с моделями рака яичников (OVCAR-3), рака легких (A-549), рака молочной железы (MX-1) и рака простаты (PC-3) человека. Результаты показали, что применение паклитаксела в липосомальной форме приводило к уменьшению опухолей в большей степени, чем при использовании препарата в свободной форме. Кроме того, в ходе токсикологических испытаний было показано, что липосомальная форма паклитаксела обладает меньшей токсичностью по сравнению со свободным паклитакселом.

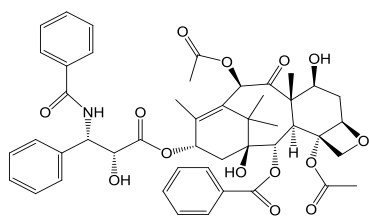


Рис. 3. Структура паклитаксела.

В работе [5] Yang и соавт. разработали пегилированный липосомальный препарат паклитаксела, обладающий цитотоксической активностью в отношении линий раковых клеток рака молочной железы (MDA-MB-231 и SK-BR-3). Фармацевтическая эффективность этого липосомального препарата после 72 ч инкубации была оценена в сравнении с известным на рынке препаратом для лечения рака молочной железы — Taxol®. Авторы также показали, что по сравнению с обычными липосомами, пегилированные липосомы увеличивали период полувыведения паклитаксела с 50.5 ± 1.52 ч до 17.8 ± 2.35 ч у крыс. Исследование биораспределения на модели ксенотрансплантата рака

молочной железы у мышей свидетельствовало о значительном увеличении доставки пегилированных липосом к опухолевым тканям после инъекции по сравнению с Taxol® или обычными липосомами соответственно. Кроме того, пегилированные липосомы показали более эффективное ингибирование роста опухолей в исследованиях *in vivo*.

Доклинические и клинические исследования показали значительную эффективность и пониженную токсичность липосом, содержащих даунорубин (ДНР) (рис. 4). Однако при лечении гепатоцеллюлярной карциномы и цирроза печени липосомальный ДНР показал умеренную гематотоксичность и значительную гепатотоксичность, что исключило дальнейшие исследования этих липосом у пациентов с такими заболеваниями [6]. Липосомальный ДНР показал многообещающие результаты в лечении Т-клеточной лимфомы кожи [7]. Кроме того, смесь липосомального ДНР-карбоплатина и этопозида была использована для лечения у детей с рецидивом глиомы после операции. В результате лечения была показана стабильность препарата наряду с его низкой гематотоксичностью [8].

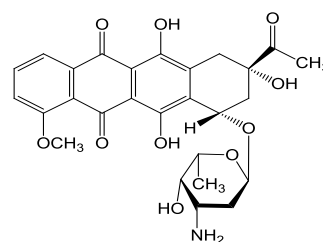


Рис. 4. Структура даунорубина.

Конъюгат холестерина и карборана — холестерин (1,12)-дикарба-*клозо*-додекаборан-карбоксилат (рис. 5) был синтезирован в качестве потенциального агента для бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ) рака. Полученный конъюгат был инкапсулирован в липосомы, что обеспечило достаточный уровень бора для клеток глиомы 9L крыс в экспериментах *in vitro*. В результате было показано, что холестерин (1,12)-дикарба-*клозо*-додекаборан-карбоксилат в составе липосом является перспективным агентом для БНЗТ и содержание бора в раковых клетках при его применении было выше по сравнению с обычными клетками, что объясняется их активным ростом [9].

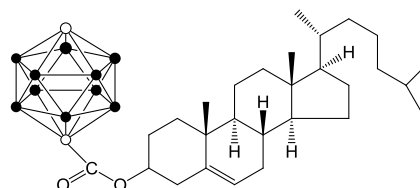


Рис. 5. Структура холестерин (1,12)-дикарба-*клозо*-додекаборан-карбоксилата.

Авторами Shabbits и Mayer [10] были разработаны липосомы, используемые в качестве новых противоопухолевых агентов и содержащие в своем составе достаточно большой процент природного липида – церамида. Такие липосомы показали значительную противоопухолевую активность на модели асцитной опухоли J774 в экспериментах *in vivo*. Ozpolat и соавт. [11] в своем исследовании также показали, что при внутривенной инъекции липосом, содержащих *транс*-ретиноевую кислоту (ТРК) (рис. 6), наблюдалась повышенная концентрация ТРК в плазме. ТРК с такими благоприятными фармакокинетическими характеристиками может быть эффективным средством при лечении острого промиелоцитарного лейкоза или других видов рака.

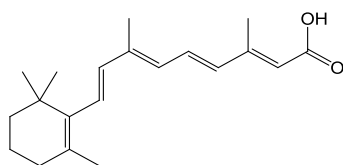


Рис. 6. Структура *транс*-ретиноевой кислоты.

Цисплатин (CDDP) (рис. 7) является одним из наиболее эффективных химиотерапевтических агентов, используемых для внутривенного введения при лечении рака яичников, легких, мозга и опухоли шеи [12–14]. Кроме того, CDDP широко используется в лечении перитонеального карциноматоза при внутрибрюшинном способе введения. Использование CDDP в указанных случаях демонстрирует достаточно высокую эффективность при лечении больных, при этом позволяя решать проблемы, связанные с токсичностью. Аналогично другим гидрофобным противораковым соединениям, были проведены исследования эффективности доставки липосомальных структур с CDDP, которые показали положительные результаты в преодолении недостатков и улучшении фармацевтической эффективности традиционных форм препарата.

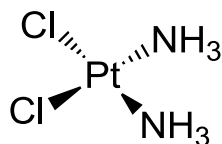


Рис. 7. Структура цисплатина (CDDP).

В исследовании [15] Hirai и соавт. инкапсулировали CDDP в липосомы, состоящие из смеси 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (DPPC)/холестерина/ганглиозида/дидетилфосфата/дипальмитоил фосфатидилэтаноламина (DPPE) с молярным соотношением, соответственно, 35:40:5:15:5. Такой липосомальный препарат был назван CDDP-Lip. Далее, на основе полученного CDDP-Lip, авторы предложили включить на поверхность липосом молекулы тетрасахарида, который обычно прикреп-

ляется к О-гликанам на поверхности клеток и играет важную роль в процессе клеточного распознавания (Sialyl LewisX), для получения второго препарата с названием CDDP-SLX-Lip. Были произведены биологические испытания с введением CDDP-Lip и CDDP-SLX-Lip мышам с опухолью A549. Полученные результаты показали, что при использовании CDDP-SLX-Lip коэффициент выживаемости достиг 75% спустя 14 дней. Уменьшение массы тела мышей в экспериментах было незначительным, гистологические аномалии также не выявились. При этом накопление CDDP-SLX-Lip в опухолях было примерно в 6 раз больше, чем накопление CDDP-Lip или свободного CDDP. Таким образом, авторы сделали вывод, что препарат CDDP-SLX-Lip обладает лучшей противоопухолевой активностью по сравнению с CDDP-Lip, а также значительно меньшей токсичностью для нормальных тканей.

Долгоциркулирующий липосомальный препарат с названием Lipoplatin® на основе CDDP, состоящий из смеси соевого фосфатидилхолина, дипальмитоил-фосфатидилглицерина, холестерина и 1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламина-N-[амино(полиэтиленгликоль)-2000], был получен в работе [16]. Данный препарат был разработан с целью уменьшения токсичности CDDP при одновременном улучшении противоопухолевой активности по отношению к первичным опухолям и метастазам за счет повышения времени циркуляции ЛС в жидкостях и тканях организма. Исследования цитотоксической способности Lipoplatin® были выполнены на раковых клеточных линиях, происходящих из немелкоклеточного рака легкого, почки и нормальных кроветворных клеток предшественников. Lipoplatin®, по сравнению со свободным CDDP, оказывает более сильное цитотоксическое действие на раковые клеточные линии, а также проявляет более низкую токсичность по отношению к нормальным стволовым клеткам костного мозга [17].

В работе [18] Boulikas и соавт. исследовали гипотезу, что внутривенное введение Lipoplatin® может привести к избирательному поглощению в опухолях при клинических испытаниях. Определение уровня платины в опухолях и нормальных тканях показало, что Lipoplatin® может преимущественно накапливаться в злокачественных тканях (в 10–50 раз больше) первичного и метастатического происхождения по сравнению с нормальными тканями после внутривенного введения пациентам. Двухстадийное исследование было выполнено с целью проверки максимально переносимой дозы (МПД) и ограничивающей дозу токсичности (ОДТ). Первые испытания были проведены с использованием комбинации Lipoplatin® и гемцитабина (рис. 8) у больных раком под-

желудочной железы, которые в предшествующей химиотерапии не получили терапевтический эффект от гемцитабина. Полученные результаты показали отсутствие нефротоксичности после совместного использования Lipoplatin® в дозах 100 мг/м² (МПД) и 125 мг/м² (ОДТ) и гемцитабина в дозе 1000 мг/м². Однако, при использовании повышенной дозы Lipoplatin®, в ходе исследования МПД (стадия I) проявлялись такие симптомы как тошнота, рвота, усталость, диарея, нейротоксичность и тромботические осложнения, а при изучении ДОТ (стадия II) проявлялась нейтропения. Таким образом, МПД и ДОТ для Lipoplatin® в комбинации с гемцитабином (1000 мг/м²) составили соответственно 100 и 125 мг/м².

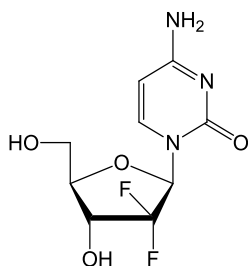


Рис. 8. Структура гемцитабина.

Для лечения немелкоклеточного рака легкого в работе [19] Lipoplatin® и гемцитабин также были совмещены и использованы в различных терапевтических схемах: Lipoplatin® в дозе 120 мг/м² (использовали на 1, 8 и 15 день) и гемцитабин в дозе 1000 мг/м² (использовали на 1 и 8 день). Полученные результаты были положительными в отношении лекарственного ответа у пациентов – 31.7 % (больше, чем у пациентов, которых лечили вариантом комбинации CDDP и гемцитабина – 25.6%). Кроме того, Lipoplatin® также показал пониженную нефро-токсичность по сравнению с CDDP в свободной форме.

В работе [20] Farhat и соавт. исследовали совместное использование Lipoplatin® и винорелбина (рис. 9) в лечении HER2/Neu-отрицательного метастатического рака молочной железы. Клинические испытания на пациентах показали хорошую фармацевтическую эффективность лекарства с полным ответом у 9.4% пациентов, частичным ответом у 43.8% пациентов, стабилизацией заболевания у 37.5% пациентов и прогрессирующим заболеванием у 9.4% пациентов. Кроме того, при исследовании не была обнаружена нейротоксичность и нефротоксичность.

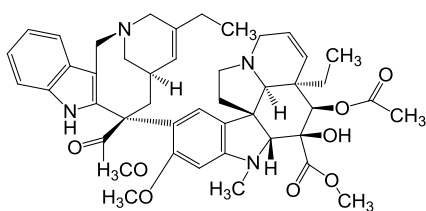


Рис. 9. Структура винорелбина.

Липосомы для доставки лекарств в антибактериальной терапии

Лечение бактериальных инфекционных заболеваний отличается от других бактериальных заболеваний из-за особых свойств инфекционных бактерий (ИБ). Одной из отличительных особенностей ИБ является наличие оболочки с высоким содержанием особых липидов, которая защищает бактериальную клетку от иммунного ответа организма-хозяина и антибактериальной терапии. Кроме того, ИБ являются факультативными внутриклеточными паразитами, которые обычно вызывают хронические заболевания. Наличие подобных свойств затрудняет противомикробную терапию. Для достижения эффективности противомикробные препараты должны проникать в макрофаги клетки-хозяина, иметь низкую токсичность и быть эффективными в малых дозах [21].

Известно, что антибиотики могут обладать резистентностью к внутриклеточным инфекциям при проникновении в фагоцитарные клетки. Положительные результаты были показаны при локализации липосом в печени и селезенке, особенно в компонентах ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС), где находятся многие патогенные микроорганизмы. Таким образом, липосомы могут быть использованы для доставки антибиотиков к клеткам-мишеням этих органов.

Несмотря на то, что антибактериальный препарат полимиксин В (рис. 10) может задерживать различные бактериальные инфекции, включая *Pseudomonas aeruginosa*, его побочные токсические эффекты, в том числе ототоксичность, нефротоксичность и нервно-мышечная блокада, являются существенными препятствиями для использования [22]. Тем не менее, результаты исследования [22] показали, что применение полимиксина В в липосомальной форме снижало побочные эффекты этого лекарственного препарата. Кроме того, испытания *in vitro* на бактериальных штаммах *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter lwoffii* и *Acinetobacter baumannii* также показали, что инкапсуляция полимиксина В в липосомы улучшает антимикробную активность и снижает популяцию бактерий, при этом установлено, что липосомы способны защищать поликатионные антибиотики от инактивации полианионными компонентами в мокроте [23, 24].

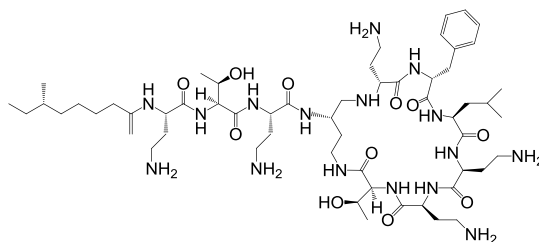


Рис. 10. Структура полимиксина В.

Для лечения экспериментального лейшманиоза хомяков были предприняты попытки создания таргетных препаратов, направленных на маннозил-фукозилные рецепторы макрофагов. Были приготовлены маннозилированные или фукозилированные липосомы, заполненные специальным препаратом – андрографолидом (рис. 11). Маннозилированные липосомы проявили более сильную активность против лейшманиоза. Данные липосомы показали очень мощную фармацевтическую активность с пониженной паразитной нагрузкой в селезенке, а также снижение токсичности в печени и почках [25].

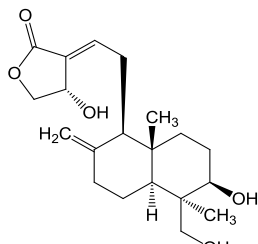


Рис. 11. Структура андрографолида.

Аналогично, эффективность лиофилизированных липосом с инкапсулированным антипротозойным препаратом – антимономатом меглума (рис. 12) была оценена на хомяках, зараженных *Leishmania chagasi*. Результаты испытаний показали значительное уменьшение паразитных нагрузок печени у животных при лечении этими липосомами по сравнению с действием свободного препарата. Такого рода липосомы на основе антимономата меглума, по-видимому, перспективны в качестве фармацевтического продукта для лечения висцерального лейшманиоза [26].

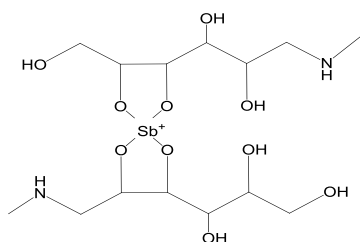


Рис. 12. Структура антимономата меглума.

Инфекция *Staphylococcus aureus* является одной из сложных инфекционных форм, которая является большой проблемой для общественного здравоохранения. В работе [27] были получены и оценены липосомальные препараты, состоящие из дицетилфосфата или димиристоил фосфатидилглицерина и инкапсулированного ванкомицина (рис. 13) в испытаниях *in vitro* против *Staphylococcus aureus*. Оба липосомальных препарата показали улучшение антимикробной активности ванкомицина. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) липосомальных препаратов против штаммов *Staphylococcus aureus* была в 2–4 раза ниже по сравнению со свободным ванкомицином.

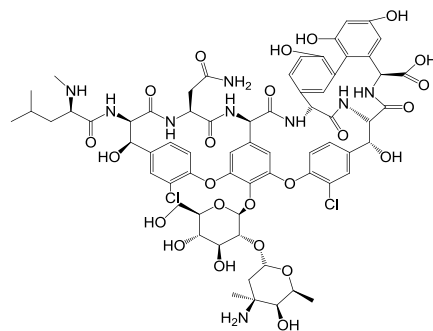


Рис. 13. Структура ванкомицина.

Для лечения инфекции *Staphylococcus aureus* в легких мышей в работе [28] были разработаны пэгиллированные липосомы, инкапсулированные ванкомицином. Результаты исследования показали, что после использования таких липосом стабильное содержание ванкомицина было продлено в плазме крови в течение 48 дней исследования. Кроме того, такие липосомальные структуры значительно улучшили биораспределение ванкомицина в печени и селезенке, а также способствовали накоплению ванкомицина в легких по сравнению со свободным препаратом.

Включение ванкомицина или ципрофлоксацина (рис. 14) в катионные, анионные и нейтральные липосомы улучшило эффективность инкапсулированных препаратов против *Staphylococcus aureus* [29]. При этом катионные липосомы продемонстрировали более высокую активность по сравнению с нейтральными и анионными липосомами. Другое исследование показало, что катионные липосомы, загруженные ципрофлоксацином, имеют антибактериальную активность в 2–4 раза выше, по сравнению со свободным препаратом, против грамотрицательных бактерий, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* [30]. Повышенная активность катионных липосом может быть объяснена взаимодействием отрицательных зарядов бактериальной клеточной мембраны с положительными зарядами на поверхности липосом [31]. Это взаимодействие приводит к увеличению накопления инкапсулированных препаратов в периплазме, что позволяет диффундировать большому количеству антимикробных молекул в цитоплазму.

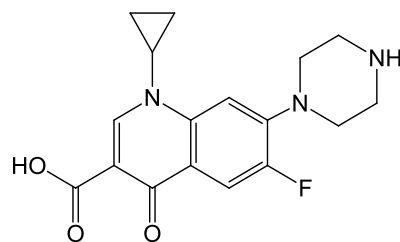


Рис. 14. Структура ципрофлоксацина.

Быстрое удаление антибиотиков ретикуло-эндотелиальной системой (РЭС) клеток Купфе-

ра печени, костного мозга и макрофагов селезенки может быть объяснено инерционностью инфекции остеомиелита из-за загрязнения костных тканей. Липосомальные лекарственные формы могут улучшить эффективность антибактериальных препаратов при лечении инфекций в твердых тканях. В работе [29] внутривенное введение катионных липосом, инкапсулированных ванкомицином или цiproфлоксацином, было более эффективным для снижения инфекции кости у кроликов, вызванных *Staphylococcus aureus*. Использование липосом в течение 7–14 дней привело к снижению тяжести заболевания в 1.5-2 раза. Также была проведена комбинированная терапия липосомальным цiproфлоксацином и липосомальным ванкомицином в течение 14 дней, при этом наблюдалось ингибирование инфекции при пониженном уровне нефротоксичности. Успех комбинированной терапии ванкомицином и цiproфлоксацином в липосомальной форме может быть объяснен продолжительным временем циркуляции липосом и меньшей степенью поглощения макрофагами.

Chono и соавт. [32] исследовали фармакокинетику и фармакодинамику липосомального цiproфлоксацина у крыс с липополисахарид-индуцированной пневмонией (ЛПС-индуцированная пневмония). Использование липосомальной формы цiproфлоксацина повышало распределение антимикробного агента в жидкости эпителиальной стенки легкого по сравнению со свободным агентом и приводило к поддержанию уровня инкапсулированного препарата в течение всего периода исследования. Кроме того, использование липосом также увеличило транспорт цiproфлоксацина в альвеолярные макрофаги и снизило системную токсичность.

Фармакокинетические и фармакодинамические параметры показали заметную фармацевтическую эффективность липосомальной формы цiproфлоксацина. Липосомальный цiproфлоксацин может стать перспективным агентом для направленного лечения внутриклеточных инфекций, связанных с воспалением легких.

Аминогликозиды, в том числе амикацин (рис.15а), нетилмицин (рис.15б) и тобрамицин (рис.15в) были загружены в катионные липосомы, состоящие из лецитина, стеариламина и холестерина или анионные липосомы, состоящие из лецитина, дицетилфосфата и холестерина [33]. Данные липосомальные препараты были исследованы в опытах *in vitro*. Использование липосом показало стабильное лекарственное высвобождение в сыворотке крови человека, однако значительной разницы в антибактериальной активности между инкапсулированными и свободными лекарственными средствами не наблюдалось. Отсутствие повышения антибактериальной активности липосом, инкапсулированных с амикацином, тобрамицином и нетилмицином, было объяснено в другом исследовании медленным высвобождением лекарственных средств из липосом, которое препятствовало действию достаточного количества антибиотиков непосредственно на бактерии [34]. Тем не менее, другие исследования [35, 36] показали, что липосомальные аминогликозиды, соединяясь с наружной мембраной *Pseudomonas aeruginosa* и *Burkholderia cepacia*, приводят к высокому содержанию аминогликозидов на стенках бактериальных клеток. Присутствие аминогликозидов в бактериальных клетках было подтверждено методами трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ), иммуноцитохимическими методами и проточной цитометрией.

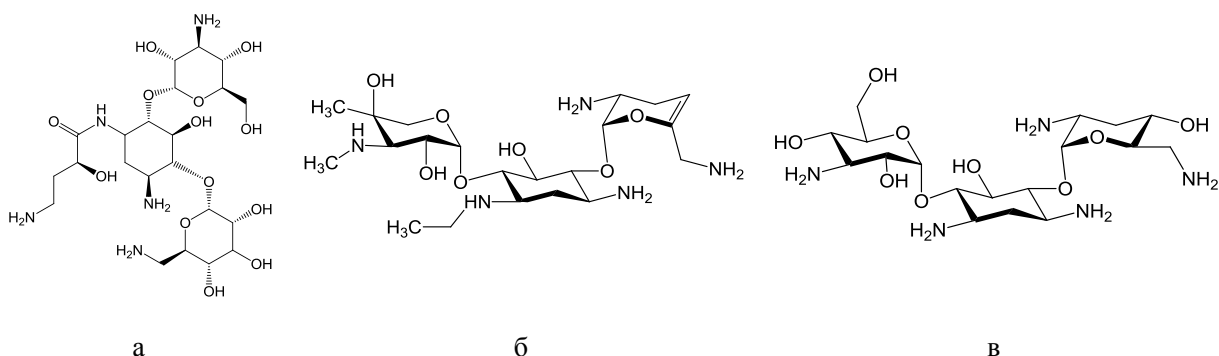


Рис. 15. Структуры аминогликозидов [33] : а – амикацин; б – нетилмицин; в – тобрамицин.

В исследовании [35] инкапсуляция амикацина, тобрамицина и гентамицина (рис. 16) в липосомы, состоящие из смеси 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (DPPC) и холестерина с молярным соотношением 2:1, приводила к более мощной антисинегнойной активности по сравнению со свободными лекарственными средствами. Аминогликозидные инкапсулированные липосомальные препараты

также улучшали антимикробную активность и пролонгировали действие лекарств в организме. Кроме того, было обнаружено снижение дозы лекарств в 64 раза в случае с амикацином (512 мг/л для свободного амикацина против 8 мг/л для липосомальной формы), в 128 раз в случае с тобрамицином (1024 мг/л для свободного тобрамицина против 8 мг/л для липосомальной формы) и в 16 раз в случае с гентамицином (256 мг/л

для свободного гентамицина против 8 мг/л для липосомальной формы) [35]. Аналогичные результаты по сокращению МИК были получены с липосомами, состоящими из смеси 1,2-димиристоил-*sn*-глицерин-3-фосфохолина и холестерина (в молярном соотношении 2:1) при инкапсуляции гентамицина в исследование [37].

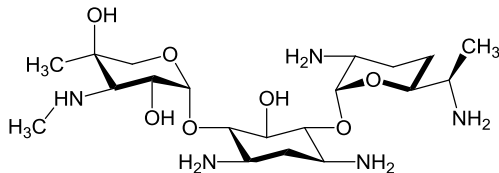


Рис. 16. Структура гентамицина.

В исследованиях [38, 39] совместная инкапсуляция висмут-этандитиола (BiEDT) с тобрамицином в липосомах показала антибактериальный синергический эффект против *Pseudomonas aeruginosa* посредством увеличения проникновения липосом в мокроту и ингибирования бактериальной популяции в структуре биопленки. Кроме того, использование таких липосом позволило уменьшить токсические побочные эффекты BiEDT на эпителиальные клетки легких, что было показано анализом МТТ (анализ по оценке жизнеспособности клеток с 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромидом (МТТ), основанный на определении активности дегидрогеназы митохондрий) и анализом лактатдегидрогеназы (лабораторный тест для определения концентрации лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови). Также Anhariri с соавт. в работе [40] на похожих исследовательских объектах было выяснено, что использование липосом с инкапсулированным BiEDT и тобрамицином понижало чувство кворума бактерий (способность некоторых бактерий общаться и координировать свое поведение за счет секреции молекулярных сигналов) и продукцию ферментов (липаза, протеаза, хитиназа) бактериями *Pseudomonas aeruginosa* посредством механизма слияния.

В работе [41] была исследована антибактериальная эффективность липосомальных структур с различными заряженными поверхностями, инкапсулированных кларитромицином (рис. 17) на штамме *Pseudomonas aeruginosa*, который был выделен от пациентов с муковисцидозом. Исследуемые липосомы показали лучшее значение МИК по сравнению со свободным препаратом. Нейтральные липосомы были более эффективными, чем свободная форма препарата, однако положительно и отрицательно заряженные липосомы были также эффективными в устранении популяции бактерии, снижении вирулентных факторов и подвижности бактерий.

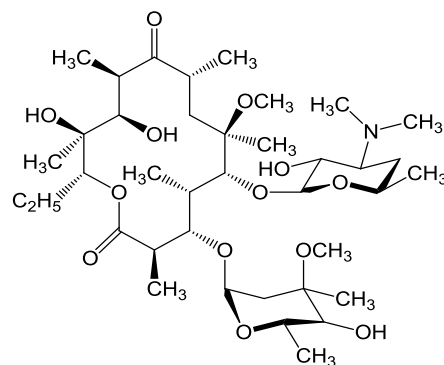


Рис. 17. Структура кларитромицина.

Как известно, CpG-олигонуклеотид (CpG-ODN) является синтетическим иммуномодулятором, который увеличивает производство оксида азота макрофагами *in vivo* [42]. Инкапсуляция CpG в катионные липосомы, состоящие из 1,2-диолеил-3-триметиламмонийпропана, показала более высокий защитный эффект в организмах мышей от инфекции бактерии *Burkholderia pseudomallei* по сравнению со свободным CpG [43]. Количество внутриклеточных бактерий в макрофагах мышей, которых лечили липосомальным препаратом, было снижено на 92% по сравнению с контрольными группами, которые получали свободный CpG-ODN, что снижало количество внутриклеточных бактерий на 45%. Снижение количества внутриклеточных бактерий являлось результатом повышенной продукции оксида азота макрофагами. Кроме того, липосомы могли накапливаться в печени и селезенке, где в большей степени локализованы инфекционные микроорганизмы. Использование данных липосом оказалось очень полезным для нацеливания антибиотиков в эти органы.

Также была исследована эффективность липосомальных структур против внутриклеточной инфекции микобактерий. Так, инкапсуляция рифабутина (рис. 18а) в липосомы улучшала бактерицидную активность против бактерий *Mycobacterium avium* по сравнению со свободным рифабутином [44]. В исследовании [45] было показано, что использование липосом с инкапсулированным рифампицином (рис. 18б) посредством внутривенного введения у мышей, инфицированных *Mycobacterium tuberculosis*, снижало поражения печени, селезенки и, особенно, легких. При этом наблюдалось значительное снижение количества *Mycobacterium tuberculosis* в тканях по сравнению со свободным рифампицином. Выявлено, что липосомы с высокой температурой фазового перехода были более эффективными для усиления транспорта рифампицина.

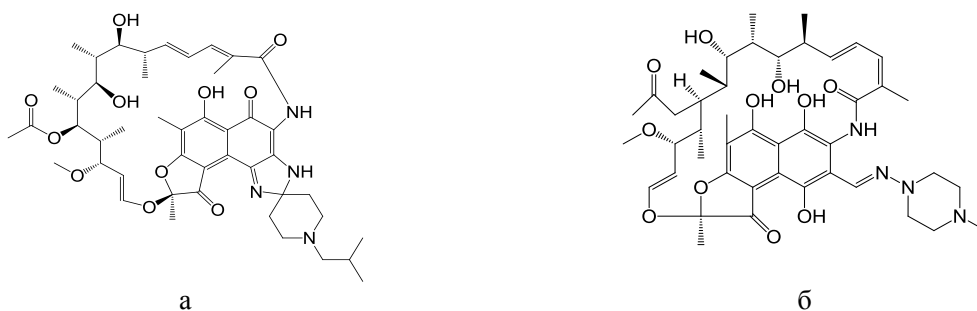


Рис. 18. Структуры препаратов против внутриклеточной инфекции микобактерий:
а – рифабутин; б – рифампицин.

Инфицированные макрофаги могут быть обнаружены с помощью маннозного рецептора [46]. Эти рецепторы могут эффективно ориентироваться к инфицированным макрофагам с помощью соответствующих систем доставки. Маннозиллированные липосомы с инкапсулированным амфотерицином В (АмВ) (рис. 19) являются более эффективным препаратом для снижения инфекции *Leishmania donovani*, по сравнению с использованием свободного АмВ или липосом без рецепторов маннозы. Улучшение восстановительного действия может быть связано с повышенным поглощением маннозы в составе данных липосом маннозо-фукозными рецепторами, присутствующими на поверхности макрофагов. Таким образом, в органах, богатых макрофагами, таких как печень и селезенка, часто происходит повышенное накопление липосом в течение длительного времени [47].

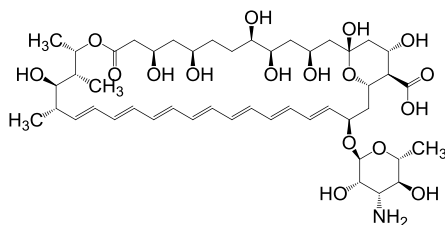


Рис. 19. Структура амфотерицина В.

Болезнь Шагаса является одним из опасных заболеваний, которое индицируется паразитами *Trypanosoma cruzi*. Эта болезнь может приводить к сердечной недостаточности у пациентов, а в некоторых случаях и к летальному исходу. В исследовании [48] были разработаны и испытаны на мышах, зараженных *Trypanosoma cruzi*, липосомы, инкапсулированные АмВ. Полученные результаты показали, что использование липосомальной формы АмВ привело к снижению инфекции в сердце, печени, селезенке, скелетных мышцах и жировых тканях. Введение АмВ на ранней стадии инфекции также привело к снижению нагрузки *Trypanosoma cruzi* в селезенке и печени, что позволило выжить инфицированным животным [48].

Рандомизированное сравнительное исследование было выполнено в работе [49] для оценки

безопасности и эффективности использования липосомальной формы АмВ по сравнению со свободным препаратом в лечении нейтропенической лихорадки. Несмотря на то, что в исследовании не было выявлено значительной разницы в фармацевтической эффективности и времени действия между двумя формами лекарства, использование свободного АмВ приводило к побочным эффектам, таким как тошнота, рвота, лихорадка и головная боль по сравнению с липосомальной формой.

Липосомы в генной терапии

Ряд системных заболеваний обусловлен недостатком ферментов, что является последствием повреждения или отсутствия некоторых генов. Использование липосом, содержащих генные конструкции, может оказаться полезным для терапии наследственных заболеваний, которые обусловлены дефектами генов, кодирующих жизненно важные белки. Для успешного применения генной терапии *in vivo* генные конструкции должны: (I) сохранять плазмиду в конденсированном состоянии и обеспечивать защиту от деградации нуклеазами; (II) успешно взаимодействовать с клеточной мембраной и интернализировать конденсированную плазмиду; (III) высвобождать плазмиду из эндосом и (IV) обеспечивать поступление плазмиды в ядра клеток. В настоящий момент в качестве векторов для переноса генов довольно часто используют вирусы, включая ретровирусы, аденовирусы, а также вирус герпеса [50].

Недостатки вирусных векторов заключаются в возможном встраивании генома вируса в геном здоровой клетки с последующим ее перерождением в злокачественную. В связи с этим были разработаны альтернативные способы доставки генов, при этом катионные липидные системы являются наиболее предпочтительными [51]. Комплексы плазмид с липосомами имеют следующие преимущества в качестве транспортных средств для переноса генов: (I) эти комплексы являются относительно неиммуногенными, поскольку они не имеют белков в своем составе; (II) липосомы или

липидные комплексы могут быть использованы для трансфекции крупногабаритного генетического материала. Несмотря на обширные исследования в области использования катионных липосом в качестве векторов для переноса генов и развитие стратегий для повышения их биологической активности, подобные системы еще находятся на экспериментальном этапе исследования, в отличие от использования вирусных векторов в генной терапии.

Катионные липосомы обычно состоят из катионных производных липидов и нейтральных фосфолипидов, таких как диолеил-фосфатидилэтаноламин (DOPE) (рис. 20а). Общепринятые катионные липосомальные системы – это липофектин, липофектамин, липофектейс, трансфектам и т.д. [52]. Катионные липосомы на основе хлорида N-[1-(2,3-диолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмония (DOTMA) (рис. 20в), а также несколько других типов показали успешную трансфекцию в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [52]. Отрицательно заряженные генетические материалы, например, плазмиды

не инкапсулируются в липосомы, но их комплексы с катионными липидами образуются за счет электростатических взаимодействий. Комплексы плазмиды с липосомами могут проникать в клетки посредством слияния с компонентами плазмы или эндосомами [53]. Липосомы, как правило, оказываются более эффективными при трансфекции генов по сравнению с мицеллами, имеющими одинаковый липидный состав, следовательно, для поддержки трансфекции важную роль играет бислойная структура. Кроме того, эффективность трансфекции генов с помощью липосом сильно зависит от состава липидов, соотношения липид/ДНК, размера частиц комплекса липосома-ДНК и используемых клеточных линий. Липосомы могут быть получены с определенными физико-химическими свойствами, такими как размер, форма и поверхностный заряд, который, в свою очередь, определяют стабильность, распределение и поглощение ДНК в экспериментах *in vivo* [54].

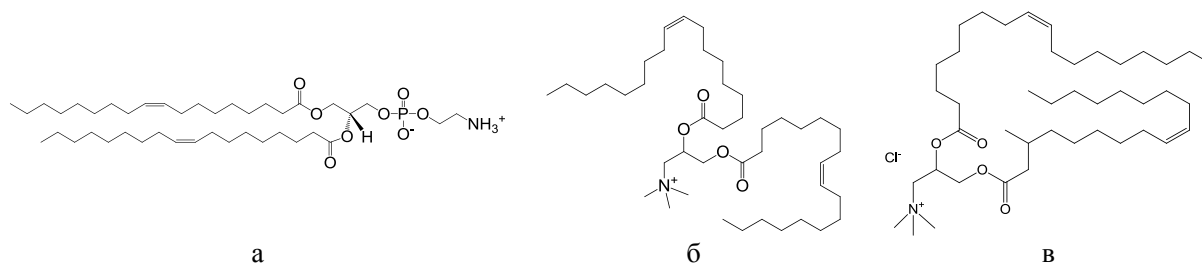


Рис. 20. Структуры некоторых катионных липидов: а – диолеил фосфатидилэтаноламин (DOPE); б – 1,2-диолеил-3-триметиламмоний-пропан (DOTAP); в – хлорид N-[1-(2,3-диолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмония (DOTMA).

С целью увеличения уровня экспрессии хлорамфеникол-ацетилтрансферазы (ХАТ) или люциферазы в клетках печени крыс в исследовании [55] были использованы катионные, нейтральные и анионные липосомы с различным соотношением ДНК и полиэтиленimina (рис. 21). Также в состав композиции был добавлен галактоцереброзид для нацеливания на асиалогликопротеиновые рецепторы гепатоцитов. Использование всех липосомальных композиций приводило к повышению эффективности трансфекции и значительно более низкому уровню токсичности по сравнению с липосомальными комплексами без полиэтиленimina. Эти липосомы являются потенциальными системами доставки *in vivo* в гепатоциты.

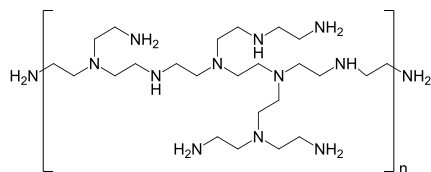


Рис. 21. Структура разветвленного полиэтиленimina.

В работе [56] Kawaura и соавт. изучали эффект моносиалоганглиозида (GM1), включенного в катионные липосомы, содержащие производные катионного холестерина на поверхности, для опосредованной трансфекции генов в культуральные клетки млекопитающих. В работе использовали два различных производных холестерина, а именно: производные, содержащие гидрофобный (рис. 22а) и гидрофильный аминокислотный (рис. 22б) остаток соответственно. Было обнаружено, что катионные липосомы, содержащие такие производные катионного холестерина, способствовали трансфекции плазмид (люциферазы pGL3) в клетки HeLa и CHO-K1 более эффективно по сравнению с контрольными катионными липосомами без моносиалоганглиозида. Конфокальная флуоресцентная микроскопия также показала, что трансфекция ДНК в составе комплекса с липосомами в клетки-мишени была более эффективной при добавлении моносиалоганглиозида в липосомы по сравнению с липосомами без моносиалоганглиозида.

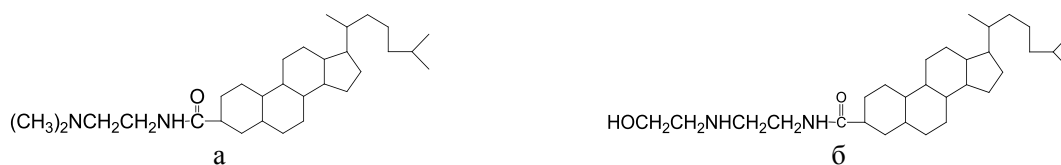


Рис. 22. Структуры производных холестерина в исследовании [56]: а – производное с гидрофобным аминокислотным остатком; б – производное с гидрофильным аминокислотным остатком.

Липосомы, состоящие из хлорида О,О'-дигидротетрадеcanoил-N-(α -триметиламмониацетил)-диэтаноламина (DC-6-14) (рис. 23), используемого в качестве катионного липида, и холестерина показали эффективную активность трансфекции генов в культуральные клетки. Комплекс липосома–ДНК–(DC-6-14) обычно имеет положительный поверхностный заряд. Однако, в зависимости от содержания ДНК в липосомах, ζ -потенциал получаемых комплексов может быть отрицательным. Поверхностный заряд этих липосом определяет их биораспределение: положительно заряженные комплексы накапливаются непосредственно в легких, в то время как для отрицательно заряженных комплексов такое накопление не наблюдалось. Таким образом, модификация поверхности липосом помогает улучшить биораспределение, а также их специфическую направленность [57].

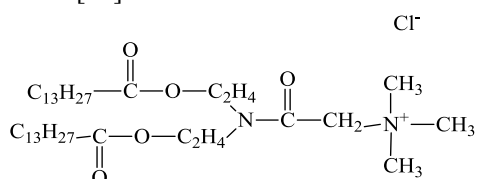


Рис. 23. Структура хлорида О,О'-дигидротетрадеcanoил-N-(α -триметиламмониацетил)-диэтаноламина (DC-6-14).

Значительное внимание в последнее время уделяется изучению липосомальных структур

для доставки малых интерферирующих РНК (миРНК). Липосомальные структуры на основе катионных липидов, таких как 1,2-диолеил-3-триметиламмоний-пропан (DOTAP) (рис. 20б) и DOTMA, были успешно использованы в качестве систем для доставки миРНК [58]. Комплексы катионных липидов и миРНК получили название «липоплекс». Липоплексы проникают в клетки в процессе эндоцитоза или путем их слияния с клеточной мембраной и высвобождают миРНК в цитозоль [59].

Катионные липосомы, обогащенные холестерином оксипропан-1-амином (COPA) (рис. 24а), были использованы для доставки миРНК [60]. Использование таких липосом позволило повысить эффективность доставки миРНК по сравнению с липосомами, состоящими из обычного холестерина. Была получена и использована катионная липосомальная структура, формирующаяся на основе различных молярных соотношений смеси N^1 -холестерин-оксикарбонил-3,7-дiazанонан-1,9-диамина (CDAN) (рис. 24б) и вспомогательного липида DOPE для оценки внутриклеточной доставки миРНК для даун-регуляции гена, кодирующего β -галактозидазу [61]. Липосомы CDAN/DOPE/миРНК оказались нетоксичны по отношению к клеткам млекопитающих, при этом внутриклеточное поглощение таких конструкций изначально оказалось медленным, но впоследствии значительно увеличивалось.

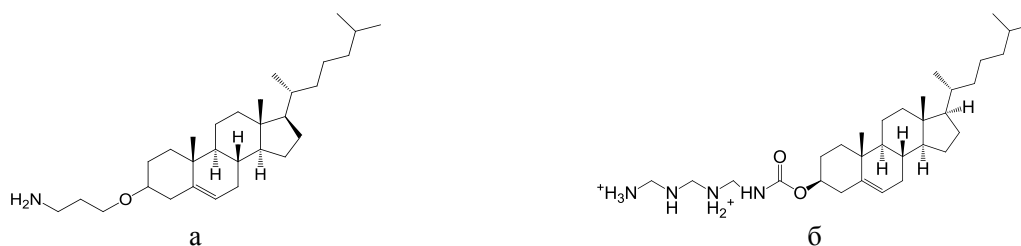


Рис. 24. Структуры производных холестерина в исследованиях [60] и [61]: а – холестерин оксипропан-1-амин (COPA); б – N^1 -холестериноксикарбонил-3,7-дiazанонан-1,9-диамин (CDAN).

Другая целевая катионная липосомальная структура для доставки миРНК также была разработана в исследовании [62]. Так, авторами были получены галактозилированные катионные липосомы (GCLs) для адресной доставки миРНК и подавления активности эндогенного гена UBC-13 в печеночных клетках карциномы. Результаты испытаний *in vivo* показали дозозависимость от содержания GCLs: активность эндогенного гена была подавлена до 60% в печени по сравнению с системой обычных липосом/миРНК,

для которой не наблюдалось подавление активности гена. GCLs не повышали уровень ферментов печени и были нетоксичны в тканях. Однако несмотря на то, что система доставки GCLs направлена в печень, в эксперименте наблюдалось ее накопление также в легких и почках, вероятно, из-за катионного характера липосом (ζ -потенциал был равен +45 мВ).

В работе [63] Chang и соавт. разработали липосомальную катионную структуру на основе DOTAP и DOPE с инкапсулированной миРНК

против позитивного рака молочной железы HER2. Они использовали TfRscFv (одноцепочечный фрагмент антитела, направленный на рецептор трансферрина) для нацеливания липосом к рецепторам трансферрина, которые, как правило, присутствуют в раковых клетках. Для повышения устойчивости миРНК была использована двухцепочечная молекула «siHybrids», состоящая из немодифицированной одноцепочечной РНК и немодифицированной одноцепочечной ДНК. Кроме того, небольшой линейный pH-чувствительный пептид был присоединен к поверхности липосом для эффективного внутриклеточного высвобождения миРНК. Результаты эксперимента *in vivo* показали, что такая липосомальная система может транспортировать молекулы миРНК в опухоли (простата, поджелудочная железа, меланома) у мышей, а также эффективно подавлять рост HER2-позитивных опухолей.

Несмотря на широкое использование катионных липосомальных структур для транспорта миРНК, такие структуры имеют определенные недостатки. Например, чрезмерное электростатическое взаимодействие между миРНК и катионными липосомами приводит к нестабильности систем и вызывает ферментативную или физическую деградацию. Причем катионные липосомы могут взаимодействовать с белками сыворотки крови, липопротеинами и внеклеточным матриксом с возможным высвобождением миРНК. Катионные липиды активируют систему комплемента и подвергаются быстрому выведению системой мононуклеарных фагоцитов. Формирование активных промежуточных форм кислорода при использовании катионных липосом также является причиной токсичности в организме [58].

Для того, чтобы избежать вышеуказанных недостатков, было предложено использование нейтральных липосом. Нейтральные липосомы снижают токсичность, увеличивают время циркуляции в кровотоке и уменьшают взаимодействие с белками [64]. Недавно были разработаны липосомы на основе 1,2-*sn*-глицеродиолеил-3-фосфохолина (DOPC) (рис. 25) со средним диаметром 65 нм для транспорта миРНК [65–69]. Испытания *in vitro* с липосомами (на основе DOPC) показали отсутствие токсичности на фибробластах, кроветворных клетках и клетках костного мозга [58]. Нейтральные липосомы по сравнению с катионными липосомами (на основе DOTAP) могут транспортировать миРНК в 10–30 раз более эффективно [70]. Кроме того, испытания *in vivo* в исследованиях [65–69] показали, что липосомы на основе DOPC при комбинировании с миРНК (150 мкг/кг в день) эффективно понижали регуляцию генов мишеней для белков, таких как Ephod2, нейропиплин 2, IL-8, Bcl-2, а также уменьшали размеры ортотопических опухолей.

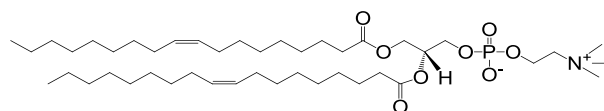


Рис. 25. Структура 1,2-*sn*-глицеродиолеил-3-фосфохолина (DOPC).

Многочисленные усилия также были приложены для получения анионных липосом для доставки миРНК. Основной целью являлось уменьшение или полное устранение неспецифических взаимодействий в сыворотке, которые обычно наблюдаются при использовании катионных липосом. Тем не менее, использование анионных липосом характеризуется низкой эффективностью инкапсуляции миРНК и низким клеточным поглощением, что снижает эффективность. Недавно в исследовании [71] Кароог и соавт. сообщили о создании анионной липосомальной структуры, состоящей из смеси 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-[фосфо-*rac*-(1-глицерина)] (DOPG) (рис. 26) и DOPE в молярном соотношении 40:60 для доставки миРНК. Молекулы миРНК были соединены с липосомами через кальциевые мостики. Анионные липосомы оказались нетоксичными и обладали значительной стабильностью в сыворотке крови. Таким образом, анионные липосомы следует рассматривать в качестве безопасной альтернативы катионным липосомам при доставке миРНК.

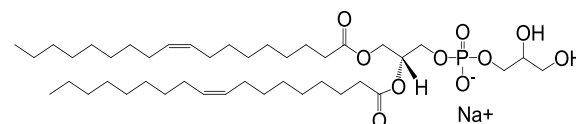


Рис. 26. Структура 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-[фосфо-*rac*-(1-глицерина)] (DOPG) (натриевая соль).

Недавно были разработаны и использованы стабильные частицы нуклеиновая кислота-липид (Stable nucleic acid lipid particles - SNALPs) для системной доставки миРНК [72]. В исследованиях [73, 74] подобные липосомы с диаметром 100 нм были получены путем слияния ионизируемых и катионных липидов, холестерина и ПЭГ-модифицированных липидов. Состав этих липидных компонентов может быть скорректирован в соответствии с конкретным исследованием. Полезность SNALPs для доставки миРНК была впервые продемонстрирована в экспериментах на мышах, зараженных вирусом гепатита В (HBV-инфекция) [75]. После этого SNALPs были скомбинированы с миРНК против клеточного цикла белков Plk1 в терапии рака [76]. Полученный препарат не проявил сопутствующую токсичность в печени, а также улучшил выживаемость мышей

с опухолевой моделью Neuro2A печени. Последние исследования показали, что успех SNALPs для лечения гепатоцеллюлярной карциномы может быть связан с тем, что SNALPs были опсонизированы аполипопротеином Е (АпоЕ) и подвергнуты рецептор-опосредованному эндоцитозу гепатоцитами, таким образом, избегая фагоцитарного поглощения клетками Купфера [77].

Заключение

Таким образом, липосомы являются перс-

пективными средствами доставки биологически активных соединений. Они могут переносить большое количество лекарственных препаратов, использующихся в различных лечебных целях, что позволяет уменьшить токсичность этих препаратов, минимизировать побочные эффекты, а также повысить стабильность и растворимость лекарств. В ближайшее время исследования липосом продолжатся в направлении оптимизации их структур, повышения специфичности и селективности доставки ЛС к терапевтической мишени.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Weissig V. *Liposomes: Methods and Protocols*. Vol. 1: Pharmaceutical Nanocarriers. New York: Humana Press, 2010. P. 1–27.
2. Швец В.И., Каплун А.П., Краснополянский Ю.М., Степанов А.Е., Чехонин В.П. От липосом семидесятых к нанобиотехнологии XXI века // *Рос. нанотехнологии*. 2008. Т. 3. № 11. С. 52–67.
3. Yoshinobu F., Hideki I. Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis // *Advanced Powder Technology*. 2006. V. 17. P. 1–28.
4. Zhang J.A., Anyarambhatla G., Ma L., Ugwu S., Xuan T., Sardone T., Ahmad I. Development and characterisation of a novel Cremophor EL free liposome based paclitaxel (LEP-ETU) formulation // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005. V. 59. P. 177–187.
5. Yang T., Cui F.D., Choi M.K., Cho J.W., Chung S.J., Shim C.K., Kim D.D. Enhanced solubility and stability of PEGylated liposomal paclitaxel: In vitro and in vivo evaluation // *Int. J. Pharm.* 2007. V. 338. P. 317–326.
6. Daniele B., DeVivo R., Perrone F., Lastoria S., Tambaro R., Izzo F., Fiore F., Vallone P., Pignata S. Phase-I clinical trial of liposomal daunorubicin in hepatocellular carcinoma complicating liver cirrhosis // *Anticancer Res.* 2000. V. 20. P. 1249–1251.
7. Wollina U., Hohaus K., Schonlebe J., Haroske E., Kostler E. Liposomal daunorubicin in tumor stage cutaneous T-cell lymphoma: report of three cases // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2003. V. 129. P. 65–69.
8. Fiorillo A., Maggi G., Greco N., Migliorati R., D'Amico A., DeCaro M.D., Sabbatino M.S., Buffardi F. Second-line chemotherapy with the association of liposomal daunorubicin, carboplatin and etoposide in children with recurrent malignant brain tumors // *J. Neurooncol.* 2004. V. 66. P. 179–185.
9. Peacock G.F., Ji B., Wang C.K., Lu D.R. Cell culture studies of a carborane cholesteryl ester with conventional and PEG liposomes // *Drug Deliv.* 2003. V. 10. P. 29–34.
10. Shabbits J.A., Mayer L.D. High ceramide content liposomes with in vivo antitumor activity // *Anticancer Res.* 2003. V. 23. P. 3663–3669.
11. Ozpolat B., Lopez-Berestein G., Adamson P., Fu C.J., Williams A.H. Pharmacokinetics of intravenously administered liposomal all-trans-retinoic acid (ATRA) and orally administered ATRA in healthy volunteers // *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2003. V. 6. P. 292–301.
12. Krieger M., Eckstein N., Schneider V., Koch M., Royer H.D., Jaehde U., Bendas G. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeted liposomes in vitro // *Int. J. Pharm.* 2010. V. 389. P. 10–17.
13. Le Chevalier T., Brisgand D., Douillard J.Y., Pujol J.L., Alberola V., Monnier A., Riviere A., Lianes P., Chomy P., Cigolari S. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non-small-cell lung cancer: results of a European multicenter trial including 612 patients // *J. Clin. Oncology*. 1994. V. 12. P. 360–367.
14. Guillot T., Spielmann M., Kac J., Lubinski B., Tellez-Bernal E., Munck J.N., Bachouchi M., Armand J.P., Cvitkovic E. Neoadjuvant chemotherapy in multiple synchronous head and neck and esophagus squamous cell carcinomas // *Laryngoscope*. 1992. V. 102. P. 311–319.
15. Hirai M., Minematsu H., Hiramatsu Y., Kitagawa H., Otani T., Iwashita S., Kudoh T., Chen L., Li Y., Okada M., Salomon D.S., Igarashi K., Chikuma M., Seno M. Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells // *Int. J. Pharm.* 2010. V. 391. P. 274–283.
16. Stathopoulos G.P., Boulikas T., Vougiouka M., Deliconstantinos G., Rigatos S., Darli E., Viliotou V., Stathopoulos J.G. Pharmacokinetics and adverse reactions of a new liposomal cisplatin (Lipoplatin): phase I study // *Oncology Reports*. 2005. V. 13. P. 589–595.
17. Arienti C., Tesei A., Ravaioli A., Ratta M., Carloni S., Mangianti S., Ulivi P., Nicoletti S., Amadori D., Zoli W. Activity of lipoplatin in tumor and in normal cells in vitro // *Anti-cancer Drugs*. 2008. V. 19. P. 983–990.
18. Boulikas T., Stathopoulos G.P., Volakakis N., Vougiouka M. Systemic Lipoplatin infusion results in preferential tumor uptake in human studies // *Anticancer Research*. 2005. V. 25. P. 3031–3039.

19. Mylonakis N., Athanasiou A., Ziras N., Angel J., Rapti A., Lampaki S., Politis N., Karanikas C., Kosmas C. Phase II study of liposomal cisplatin (Lipoplatin) plus gemcitabine versus cisplatin plus gemcitabine as first line treatment in inoperable (stage IIIB/IV) non-small cell lung cancer // *Lung Cancer*. 2010. V. 68. P. 240–247.
20. Farhat F.S., Temraz S., Kattan J., Ibrahim K., Bitar N., Haddad N., Jalloul R., Hatoum H.A., Nsouli G., Shamseddine A.I. A phase II study of lipoplatin (liposomal cisplatin) / vinorelbine combination in HER-2/neu-negative metastatic breast cancer // *Clinical Breast Cancer*. 2011. V. 11. P. 384–389.
21. Carlton L.G., John F., Glenn J.S., Charles O.T. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Fourth Edition. US: Wiley-Blackwell, 2010. 664 p.
22. Omri A., Suntres Z.E., Shek P.N. Enhanced activity of liposomal polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa* in a rat model of lung infection // *Biochem. Pharmacol.* 2002. V. 64. P. 1407–1413.
23. Dana M.S. Recent advances in microbiology. Canada: Apple Academic Press Inc, 2012. P. 77–89.
24. Alipour M., Halwani M., Omri A. Antimicrobial effectiveness of liposomal polymyxin B against resistant Gram-negative bacterial strains // *Int. J. Pharm.* 2008. V. 355. P. 293–298.
25. Sinha J., Mukhopadhyay S., Das N., Basu M.K. Targeting of liposomal andrographolide to *L. donovani*-infected macrophages in vivo // *Drug Deliv.* 2000. V. 7. P. 209–213.
26. Frezard F., Michalick M.S., Soares C.F., Demicheli C. Novel methods for the encapsulation of meglumine antimoniate into liposomes // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2000. V. 33. P. 841–846.
27. Sande L., Sanchez M., Montes J. Liposomal encapsulation of vancomycin improves killing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a murine infection model // *J. Antimicrob. Chemother.* 2012. V. 67. P. 2191–2194.
28. Muppidi K., Wang J., Betageri G. PEGylated liposome encapsulation increases the lung tissue concentration of vancomycin // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011. V. 55. P. 4537–4542.
29. Kadry A.A., Al-Suwayeh S.A., Abd-Allah A.R. Treatment of experimental osteomyelitis by liposomal antibiotics // *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. V. 54. P. 1103–1108.
30. Gubernator J., Drulis-Kawa Z., Dorotkiewicz-Jach A. In vitro antimicrobial activity of liposomes containing ciprofloxacin, meropenem and gentamicin against gram-negative clinical bacterial strains // *Lett. Drug Des. Discov.* 2007. V. 4. P. 297–304.
31. Drulis-Kawa Z., Dorotkiewicz-Jach A., Gubernator J. The interaction between *Pseudomonas aeruginosa* cells and cationic PC:Chol:DOTAP liposomal vesicles versus outer-membrane structure and envelope properties of bacterial cell // *Int. J. Pharm.* 2009. V. 367. P. 211–219.
32. Chono S., Tanino T., Seki T. Efficient drug delivery to alveolar macrophages and lung epithelial lining fluid following pulmonary administration of liposomal ciprofloxacin in rats with pneumonia and estimation of its antibacterial effects // *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 2008. V. 34. P. 1090–1096.
33. Omri A., Ravaoarino M., Poisson M. Incorporation, release and in vitro antibacterial activity of liposomal aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. V. 36. P. 631–639.
34. Omri A., Ravaoarino M. Comparison of the bactericidal action of amikacin, netilmicin and tobramycin in free and liposomal formulation against *Pseudomonas aeruginosa* // *Chemotherapy*. 1996. V. 42. P. 170–176.
35. Mugabe C., Halwani M., Azghani A.O. Mechanism of enhanced activity of liposome-entrapped aminoglycosides against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006. V. 50. P. 2016–2022.
36. Halwani M., Mugabe C., Azghani A.O. Bactericidal efficacy of liposomal aminoglycosides against *Burkholderia cenocepacia* // *J. Antimicrob. Chemother.* 2007. V. 60. P. 760–769.
37. Rukholm G., Mugabe C., Azghani A.O. Antibacterial activity of liposomal gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*: a time-kill study // *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2006. V. 27. P. 247–252.
38. Halwani M., Blomme S., Suntres Z.E. Liposomal bismuth-ethanedithiol formulation enhances antimicrobial activity of tobramycin // *Int. J. Pharm.* 2008. V. 358. P. 278–284.
39. Halwani M., Hebert S., Suntres Z.E. Bismuth-thiol incorporation enhances biological activities of liposomal tobramycin against bacterial biofilm and quorum sensing molecules production by *Pseudomonas aeruginosa* // *Int. J. Pharm.* 2009. V. 373. P. 141–146.
40. Alhariri M., Omri A. Efficacy of liposomal bismuth-ethanedithiol-loaded tobramycin after intratracheal administration in rats with pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. P. 569–578.
41. Alhajlan M., Alhariri M., Omri A. Efficacy and safety of liposomal clarithromycin and its effect on *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. P. 2694–2704.
42. Deng J.C., Moore T.A., Newstead M.W. CpG oligodeoxynucleotides stimulate protective innate immunity against pulmonary *Klebsiella* infection // *J. Immunol.* 2004. V. 173. P. 5148–5155.
43. Puangpet A., Anderson R., Huang Y.Y. Cationic liposomes extend the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotide against *Burkholderia pseudomallei* infection in BALB/c mice // *Clin.*

Vaccine Immunol. 2012. V. 19. P. 675–683.

44. Gaspar M.M., Cruz A., Penha A.F. Rifabutin encapsulated in liposomes exhibits increased therapeutic activity in a model of disseminated tuberculosis // *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008. V. 31. P. 37–45.

45. Deol P., Khuller G.K., Joshi K. Therapeutic efficacies of isoniazid and rifampin encapsulated in lung-specific stealth liposomes against *Mycobacterium tuberculosis* infection induced in mice // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997. V. 41. P. 1211–1214.

46. Basu N., Sett R., Das P.K. Down-regulation of mannose receptors on macrophages after infection with *Leishmania donovani* // *Biochem. J.* 1991. V. 277. P. 451–456.

47. Rathore A., Jain A., Gulbake A. Mannosylated liposomes bearing Amphotericin B for effective management of visceral Leishmaniasis // *J. Liposome Res.* 2011. V. 21. P. 3333–3340.

48. Cencig S., Coltel N., Truyens C. Parasitic loads in tissues of mice infected with *Trypanosoma cruzi* and treated with AmBisome // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011. V. 5 (6). e1216.

49. Jadhav M.P., Shinde V.M., Chandrakala S. A randomized comparative trial evaluating the safety and efficacy of liposomal amphotericin B (Fungisome) versus conventional amphotericin B in the empirical treatment of febrile neutropenia in India // *Indian J. Cancer*. 2012. V. 49. P. 107–113.

50. Crystal R.G. Transfer of genes to humans: early lesions and obstacles to success // *Science* 270. 1995. P. 404–410.

51. Gao X., Huang L. Cationic liposome mediated gene transfer // *Gene Ther.* 1995. V. 2. P. 710–722.

52. Tomlinson E., Rolland A.P. Controllable gene therapy: pharmaceuticals of non viral gene delivery systems // *J. Contr. Rel.* 1996. V. 39. P. 357–372.

53. Sharma A., Sharma U.S. Liposomes in drug delivery: progress and limitations // *Int. J. Pharm.* 1997. V. 154. P. 123–140.

54. Zou Y., Zong G., Ling Y.H., Perez-Soler R. Development of cationic liposome formulations for intratracheal gene therapy of early lung cancer // *Cancer Gene Ther.* 2000. V. 7. P. 683–696.

55. Bandyopadhyay P., Kren B.T., Ma X., Steer C.J. Enhanced gene transfer into HuH-7 cells and primary rat hepatocytes using targeted liposomes and polyethylenimine // *Biotechniques*. 1998. V. 25. P. 282–284.

56. Kawaura C., Hasegawa S., Hirashima N., Nakanishi M. Monosialoganglioside containing cationic liposomes with a cationic cholesterol derivative promote the efficiency of gene transfection in mammalian culture cells // *Biol. Pharm. Bull.* 2000. V. 23. P. 778–780.

57. Ishiwata H., Suzuki N., Ando S., Kikuchi H., Kitagawa T. Characteristics and biodistribution of cationic liposomes and their DNA complexes // *J. Contr. Rel.* 2000. V. 69. P. 139–148.

58. Ozpolat B., Sood A., Lopez-Berestein G. Nanomedicine based approaches for the delivery of siRNA in cancer // *J. Intern. Med.* 2010. V. 267. P. 44–53.

59. Tseng Y.C., Mozumdar S., Huang L. Lipid-based systemic delivery of siRNA // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009. V. 61. P. 721–731.

60. Han S.E., Kang H., Shim G.Y. Novel cationic cholesterol derivative-based liposomes for serum-enhanced delivery of siRNA // *Int. J. Pharm.* 2008. V. 353. P. 260–269.

61. Spagnou S., Miller A.D., Keller M. Lipidic carriers of siRNA: differences in the formulation, cellular uptake, and delivery with plasmid DNA // *Biochemistry*. 2004. V. 43. P. 13348–13356.

62. Sato A., Takagi M., Shimamoto A. Small interfering RNA delivery to the liver by intravenous administration of galactosylated cationic liposomes in mice // *Biomaterials*. 2007. V. 28. P. 1434–1442.

63. Pirollo K.F., Chang E.H. Targeted delivery of small interfering RNA: approaching effective cancer therapies // *Cancer Res.* 2008. V. 68. P. 1247–1250.

64. Hughes J., Yadava P., Mesaros R. Liposomal siRNA delivery // *Methods Mol. Biol.* 2010. V. 605. P. 445–459.

65. Gray M.J., Van Buren G., Dallas N.A. Therapeutic targeting of neuropilin-2 on colorectal carcinoma cells implanted in the murine liver // *J. Natl. Cancer Inst.* 2008. V. 100. P. 109–120.

66. Merritt W.M., Lin Y.G., Spannuth W.A. Effect of interleukin-8 gene silencing with liposome-encapsulated small interfering RNA on ovarian cancer cell growth // *J. Natl. Cancer Inst.* 2008. V. 100. P. 359–372.

67. Ozpolat B., Akar U., Tekedereli I. Targeted silencing of Bcl-2 by liposomal siRNA- nanovectors leads to autophagic and apoptotic cell death in in vivo breast cancer models // *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res.* 2008: 4928.

68. Halder J., Kamat A.A., Landen C.N. Focal adhesion kinase targeting using in vivo short interfering RNA delivery in neutral liposomes for ovarian carcinoma therapy // *Clin. Cancer Res.* 2006. V. 12. P. 4916–4924.

69. Landen C.N., Chavez-Reyes A., Bucana C. Therapeutic EphA2 gene targeting in vivo using neutral liposomal small interfering RNA delivery // *Cancer Res.* 2005. V. 65. P. 6910–6918.

70. Gewirtz A.M. On future's doorstep: RNA interference and the pharmacopeia of tomorrow // *J. Clin. Invest.* 2007. V. 117 (12). P. 3612–3614.

71. Kapoor M., Burgess D.J. Efficient and safe delivery of siRNA using anionic lipids: formulation optimization studies // *Int. J. Pharm.* 2012. V. 432. P. 80–90.

72. Jeffs L.B., Palmer L.R., Ambegia E.G. A scalable, extrusion-free method for efficient liposomal encapsulation of plasmid DNA // *Pharm. Res.* 2005. V. 22. P. 362–372.
73. Gomes-da-Silva L.C., Fonseca N.A., Moura V. Lipid-based nanoparticles for siRNA delivery in cancer therapy: paradigms and challenges // *Acc. Chem. Res.* 2012. V. 45. P. 1163–1171.
74. Huang L., Liu Y. In vivo delivery of RNAi with lipid-based nanoparticles // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2011. V. 13. P. 507–530.
75. Morrissey D.V., Lockridge J.A., Shaw L. Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs // *Nat. Biotechnol.* 2005. V. 23. P. 1002–1007.
76. Judge A.D., Robbins M., Tavakoli I. Confirming the RNAi-mediated mechanism of action of siRNA-based cancer therapeutics in mice // *J. Clin. Invest.* 2009. V. 119. P. 661–673.
77. Akinc A., Querbes W., De S. Targeted delivery of RNAi therapeutics with endogenous and exogenous ligand-based mechanisms // *Mol. Ther.* 2010. V. 18. P. 1357–1364.

LIPOSOMAL DELIVERY SYSTEMS OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE TREATMENT OF THE CERTAIN DISEASES

**N.H. Quang^{1,@}, V.V. Chupin², D.I. Prokhorov¹, K.A. Zhdanova³,
V.I. Shvets^{1,4,5}**

¹*Department of Biotechnology and Bionanotechnology, M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, 119571 Russia*

²*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow Region, 141700 Russia*

³*Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, 119571 Russia*

⁴*Scientific-Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, RAMN, Moscow, 125315 Russia*

⁵*Drugs Technology Ltd., Moscow region, 141400 Russia*

[@]*Corresponding author e-mail: anpha2004@yahoo.com*

Based on the aggregate results from several different studies, this article will provide readers a survey view about the ability to drug delivery one of the most typical nano structures – liposome and the use of this structure for various therapeutic purposes, including anticancer therapy, antibacterial therapy and gene therapy.

Keywords: *nanoparticle, liposome, anticancer therapy, antibacterial therapy, gene therapy.*